

3. Mayer A.M., Poljakoff-Mayber A. - The germination of seeds. 1975. Oxford: Pergamon Press. 192 p.
4. Datta K., Marsh L., Marcus A. - Plant physiology. 1983, vol. 72, p. 394-397.
5. Aspart L., Meyer Y., Laroche M., Penon P. - Plant physiology, 1984, vol. 76, p. 664-673.
6. Grzelczak Z.F., Rahman S., Kennedy T.D., Lane B.G. - Can.J. Biochem. Cell Biol. 1985, vol. 63, p. 1003-1013.
7. Lane B.G., Grzelczak Z.F., Kennedy T.D., Rahman S., Joshi S. - Biochem. Cell Biol. 1987, vol. 65, p. 354-362.
8. Marcus A., Feeley J., Volcane T. - Plant physiology, 1966, vol. 41, p. 1167-1172.
9. Обручева Н. В., Ковадло Л. С. - Физиология растений, 1985, т. 32, с. 753-761.
10. Обручева Н.В., Ковадло Л.С., Прокофьев А.А. - Физиология растений, 1988, т. 35, с. 253-258.
11. Bewley J. D., Black M. - Physiology and biochemistry of seeds in relation to germination. 1978, vol. 1. Development, germination and growth. Berlin: Springer Verlag. 306 p.
12. Obroucheva N.V., Antipova O.V. - Seed hydration as a trigger of cell elongation in bean hypocotyl and radicle. In: Structural and functional aspects of transport in roots /B. Loughman ed./. Flower Acad. Press, 1988.
13. Obroucheva N.V. - Die physiologischen Prozesse keimender Samen bei der Quellung. In: Qualitätsaatgut-Produktion und Ertragsbeeinflussung. 1988, B.1, S. 24-31. Halle /Saale/: M. Luther Universität.

## ГОРМОНАЛЬНАЯ РЕГУЛЯЦИЯ ПРОРАСТАНИЯ СЕМЯН

В.В.ПОЛЕВОЙ, С.М.ЩИПАРЕВ, О.В.МОСКАЛЕВА

/Ленинградский государственный университет/

В настоящее время много известно о биосинтезе, метаболизме, транспорте и механизме действия от-

дельных фитогормонов. Значительно меньше мы знаем о функционировании гормональной системы растений в целом. Формирующиеся и прорастающие семена - удобные объекты для ее изучения.

В нашей работе использовали зерновки кукурузы Одесская-80. После их промывки и замачивания в воде в течение 2 ч, зерновки проращивали в термостате при 28°C в темноте.

Известно, что в начале набухания в зерновках кукурузы ИУК и АБК в свободном и связанном состояниях присутствуют как в эндосперме, так и в щитке с зародышем. Зеатин и гиббереллины в связанной форме находятся главным образом в эндосперме, а в свободной - в щитке и зародыше. Какую же роль играют фитогормоны в эндосперме?

Еще Дюр /1/ показал, что зародыш кукурузы со щитком, изолированный от эндосперма через час после начала набухания, развивается на минеральной среде с добавками сахаров или крахмала, но без фитогормонов, почти так же, как интактный зародыш. Следовательно, роль эндосперма заключается только в снабжении зародыша питательными веществами. Более того, согласно данным Дюр, до 3-6 суток зародыш может развиваться только за счет питательных веществ щитка. В наших опытах удаление эндосперма через 24 ч после начала набухания существенно не влияло на рост и митотическую активность в надземных частях проростка кукурузы в течение 5 суток. Рост корня начинал тормозиться после 2 суток, но деление клеток в корневой меристеме оставалось на уровне контроля /2,3/. Таким образом, можно думать, что развивающийся зародыш не нуждается в эндосперме в качестве донора физиологически активных веществ, а использует его только как источник питания. Следовательно, в регуляции роста проростка участвуют фитогормоны, локализованные в щитке и осевых органах зародыша. Экспериментальные данные, приводимые в литературе относительно роли гормонов эндосперма в прорастании семян и развитии проростков, весьма противоречивы. Многие авторы полагали, что источником свободной ИУК в зародышевых органах проростков является обнаруживаемый в довольно больших количествах в эндосперме кукурузы эфир ИУК и миоинозитола, который гидролизуетс~~я~~ с образованием

свободной ИУК при транспорте в осевые органы. Однако, опыты Бандурского с сотр. /4/ с меченым ИУК-миоинозитолом показали, что при нанесении его на эндосперм он обнаруживается в основном в мезокотиле и практически отсутствует в coleoptile, который считается ответственным за образование ИУК. Многие другие эксперименты также подтверждают ту точку зрения, что синтез ИУК в развивающемся проростке происходит *de novo*, а не обусловлен гидролизом поступающих из эндосперма конъюгатов.

По нашим и литературным данным фитогормоны эндосперма могут принимать участие в регуляции распада запасных соединений в прорастающих семенах и в мембранном транспорте продуктов распада к растущему зародышу /5,6/. Набухание зерновок злаковых сопровождается подкислением эндосперма, что приводит к активации кислых гидролаз как самого эндосперма, так и выделяемых щитком /кислое внешнее пищеварение/. Содержание свободных кислот в эндосперме кукурузы возрастает в два раза за первые сутки набухания, а pH его тканей снижается с 5,7 до 4,6 уже в первые 14 ч. набухания. Подкисление идет быстро и эффективно лишь в том случае, если эндосперм не отделен от щитка. Изолированные от эндосперма и зародыша щитки кукурузы способны энергично подкислять инкубационную среду, выделяя глюконовую, лимонную, уксусную и фосфорную кислоты /7, 8/. В отделенном эндосперме при набухании не происходит значительного сдвига pH в кислую сторону, что говорит о доминирующей роли щитка в подкислении эндосперма интактных зерновок.

Нами впервые было обнаружено стимулирующее действие ИУК на выделение кислот изолированными от эндосперма и зародыша щитками кукурузы. Секретция свободных кислот из щитков в инкубационной среде с ИУК увеличивалась на 20%, а в присутствии ИУК с  $\text{CaCl}_2$  или  $\text{KCl}$  на 47-50%. Кинетин и гиббереллин сами по себе не обладали такой способностью, однако кинетин вместе с ИУК вызывал большее подкисление инкубационной среды щитками, чем одна ИУК /рис.1/.

Механизм выделения кислот и снижения pH щитками не изучен. В литературе имеются предположения о наличии в плазмалемме клеток щитков протонной АТФазы. Результаты наших опытов с ингибиторами

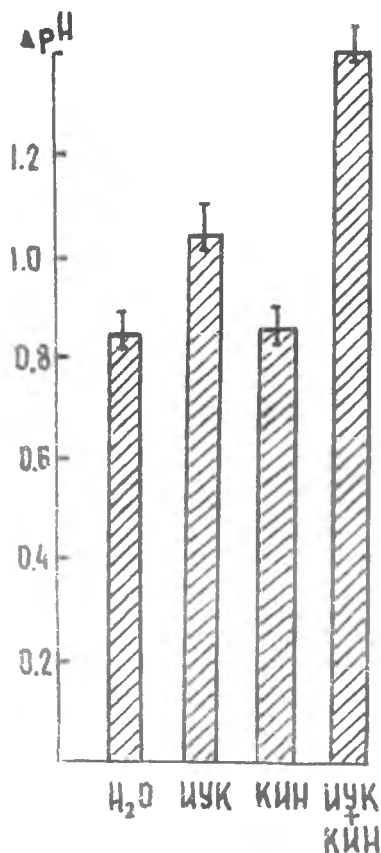


Рис. 1. Действие ауксина и кинетина на изменение pH инкубационной среды щитками кукурузы. Щитки выделены через 48 ч. с начала набухания зерновок. 30 щитков инкубировали в 5 мл среды 3 ч. ИУК -  $5,7 \cdot 10^{-5}$  М. Кинетин  $10^{-5}$ . Здесь и далее на графиках приведены ошибки среднего арифметического  $\pm m$ .

транспортных АТФаз плазмалеммы - ортованадатом и диэтилстильбэстролом - показали их ингибирующее действие на выделение кислот щитками. Используемые ингибиторы снижали также положительное действие ИУК на подкисление среды щитками. Эти данные дают основание полагать, что одним из механизмов секреции протонов щитками является  $H^+$ -АТФаза, локализованная в эпителиальных клетках щитков кукурузы, причем ИУК влияет на ее активность.

Интересно отметить стимулирующее действие ГК на секрецию протонов щитками пшеницы, обнаруженное

мехтаром и Лэйдманом /9/. Действие ГК в их опытах сводилось к АБК и не было связано с синтезом белков. Функция подкисления эндосперма принадлежит также клеткам алейронового слоя. Обнаружено, что изолированные алейроновые слои ячменя выделяют в наружную среду яблочную и фосфорную кислоты /10/. Возможно, что в зерновках пшеницы ГК стимулирует секрецию протонов в эндосперм и из клеток алейронового слоя. Выделение кислот изолированными щитками и клетками алейронового слоя носит активный характер и подавляется ингибиторами и разобщителями дыхания, анаэробнозисом, но стимулируется фитогормонами, по крайней мере у щитков /9/. У семян двудольных растений отмечено накопление кислот в семядолях под действием кинетина. Он же стимулировал выход ионов  $H^+$  из семядолей подсолнечника и тыквы. Таким образом, в прорастающих семенах действие на протонные насосы не является монополией одного гормона.

Известно, что в ходе прорастания щитки выделяют в эндосперм целый ряд гидролаз, а также всасывают продукты гидролиза эндосперма. Сведений о влиянии фитогормонов на секреторную и поглотительную функции щитков в литературе почти нет. В связи с этим мы сделали попытку изучить влияние фитогормонов - ИУК, кинетина и ГК - на секрецию суммарных белков щитками прорастающих зерновок кукурузы, а также на поглощение ими сахаров. и в литературе

Результаты опытов говорят о том, что секреция белков под действием фитогормонов у щитков увеличивается на 20-40%. Положительное влияние ИУК на секрецию суммарных белков проявляется только в присутствии катионов кальция в среде. Действие кальция было специфичным /табл./.

Скорость поглощения сахаров в симпорте с  $H^+$  щитками увеличивалась под действием кинетина и ГК вдвое, о чем можно судить по времени защелачивания инкубационной среды после прибавления к ней сахаров /рис. 2/.

В зародыше зерновки гормональная система обеспечивает регуляцию прорастания. В осевых органах проростков злаковых синтез ИУК осуществляется в верхушках coleoptилей. Меристема кончика корня ответственна за синтез цитокининов и гиббереллинов. В наших опытах /2,3/ удаление coleoptилей у 2-суточных проростков кукурузы приводило к резкому снижению роста

Т а б л и ц а

Действие фитогормонов и катионов на секрецию суммарных белков щитками кукурузы. Щитки изолированы от зародыша и эндосперма через 48 ч от начала набухания и инкубировались по 30 шт. в 5 мл среды 3 ч при 28°C

Инкубационная среда		Содержание белка /в % к контролю/
Контроль, H <sub>2</sub> O		100
Кинетин 10 <sup>-5</sup> М		135
ГК 2,8·10 <sup>-6</sup> М		140
ИУК 5,7·10 <sup>-5</sup> М		100
КСi 5 мм	-ИУК	100
	+ИУК	100
CaCl <sub>2</sub> 5мм	-ИУК	105
	+ИУК	120
MgCl <sub>2</sub> 5 мм	-ИУК	100
	+ИУК	100

мезокотилия и усилению роста корня, а нанесение на срез оставшейся надземной части ланолиновой пасты с ИУК восстанавливало рост мезокотилия и тормозило рост корня. При этом и в корне, и в мезокотиле наблюдались аналогичные изменения интенсивности деления клеток, т.е. ИУК в этих органах оказывает влияние не только на растяжение, но и на деление клеток. Рост основания листа при удалении колеоптиля усиливается, а нанесение ИУК предотвращает это усиление, резко снижая количество делящихся клеток. Удаление корня приводило к снижению роста всех надземных органов, при этом митотический индекс /МИ/ в основании листа понижался, а в участках мезокотилия и колеоптиля, прилежащих к узлу, оставался практически без изменения. ГК и кинетин при совместном действии увеличивали МИ в основании листьев, но не влияли на него в участках колеоптиля и мезокотилия, прилежащих к узлу. Рост надземных

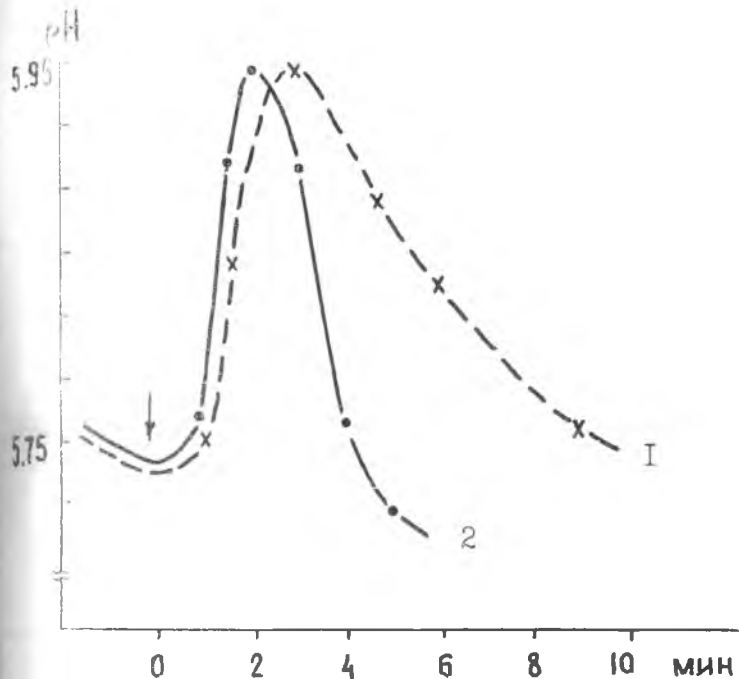


Рис. 2. Действие глюкозы и кинетина на изменение pH инкубационной среды щитками кукурузы. Щитки выделены через 48 ч с начала набухания зерновок. 25 щитков инкубировались 1,5 ч в 5 мл среды, содержащей  $\text{CaSO}_4$ ,  $5 \cdot 10^{-3}\text{M}$  и  $\text{KCl}$ ,  $5 \cdot 10^{-5}\text{M}$  /1/ или в 5 мл среды аналогичного состава, но с добавкой кинетина,  $10^{-5}\text{M}$  /2/. После этого в среду вносили 0,2 мл раствора глюкозы  $5 \cdot 10^{-3}\text{M}$  /указано стрелкой/.

органов при воздействии отдельно гиббереллином или цитокинином менялся по-другому: ГК усиливала рост мезокотили и растяжение клеток в основании листа, а кинетин значительно усиливал рост coleoptilya. Таким образом, одновременное добавление этих гормонов в среду приводило к тому, что как растяжение, так и деление клеток надземных органов приближалось к контролю /рис. 3/.

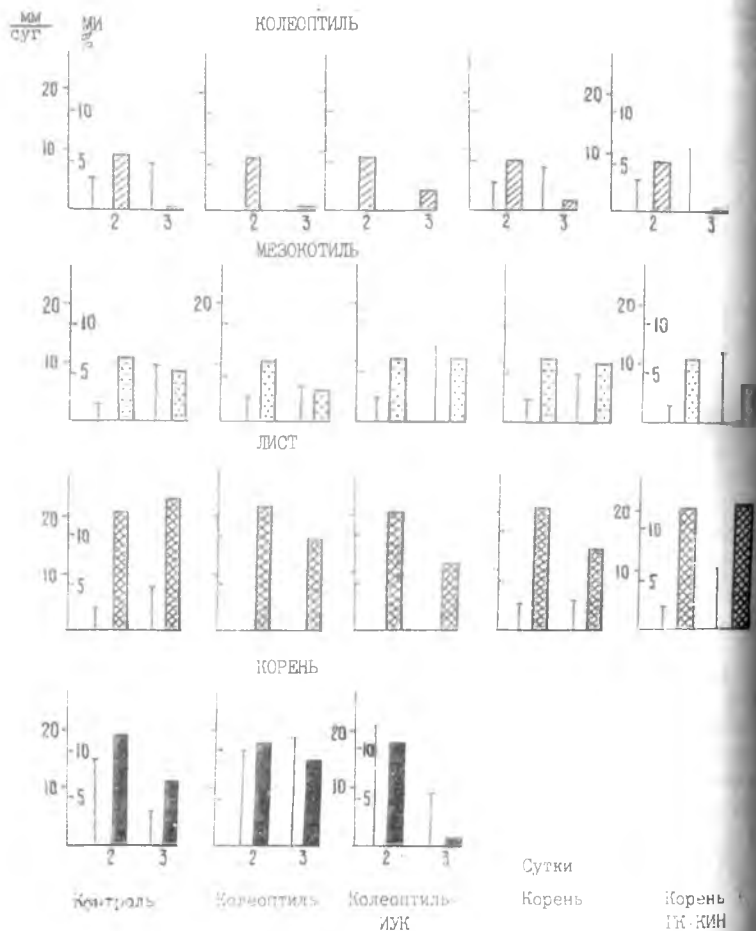


Рис. 3. Изменение роста и митотического индекса /МИ/ в органах проростков кукурузы. Через 24 ч набухания зерновок удален эндосперм, через 48 ч удалены колеоптиль /до узла/ или корень. Удаленные органы замещены фитогормонами: /0,03% в ланолине/, кинетином  $/4,6 \cdot 10^{-5} \text{м}/$ , гибберелловой кислотой  $/2,8 \cdot 10^{-5} \text{м}/$ .



Сходные результаты были получены при изучении действия фитогормонов на рост изолированных органов проростков кукурузы /11/. В этих опытах использовали отрезки апикальной части coleoptилей без верхушки, отрезки, содержащие узел и прилежащие к нему участки мезокотилея, coleoptиля и листа, отрезки мезокотилея, расположенные непосредственно под отрезками с узлом. Все изученные отрезки по-разному реагировали на добавление фитогормонов. Было показано, что вдоль осевых органов надземной части проростков кукурузы имеется градиент чувствительности к экзогенной ИУК. Наиболее чувствительными оказались отрезки мезокотилей, усиливающие рост уже при концентрации ИУК  $10^{-8}$  М. При увеличении концентрации ИУК выше  $10^{-6}$  М дальнейшего усиления роста не происходило. В апикальных отрезках coleoptилей, напротив, достоверное усиление роста наблюдалось лишь при концентрации ИУК  $10^{-6}$  М и выше. Прилежащие к узлу участки coleoptиля и мезокотилея занимали по их реакции на ИУК промежуточное положение. Рост листа, как и в вышеописанных опытах, в присутствии ИУК тормозился, причем с возрастом ингибирующее действие ИУК усиливалось. Подобное изменение чувствительности к экзогенной ИУК может быть связано как с изменением компетентности клеток к фитогормону, так и с изменением его эндогенного содержания. Имеются данные о наличии градиента эндогенной ИУК, связанного со способностью к росту растяжением соответствующих участков осевых органов /12/.

Реакция отрезков надземных органов проростков кукурузы на АБК носит противоположный характер. Если отрезки мезокотилей обладают наибольшей чувствительностью к ИУК, то на АБК они практически не реагируют, в то время как по направлению к верхушке проростка торможение роста АБК проявляется в большей степени. Действие АБК на ИУК-стимулируемый рост отрезков, однако, отличалось от ее действия на эндогенный рост. Наиболее сильное ингибирование ИУК-стимулируемого роста наблюдалось в базальных отрезках мезокотилей, в то время как в апикальных отрезках coleoptилей это ингибирование было значительно меньше.

При изучении действия кинетина на рост изоли-

рованных органов было показано, что он стимулирует рост апикальных отрезков колеоптилей 2-3-суточных проростков и прилежащих к узлу участков колеоптилей 4-5-суточных проростков, но не влияет на рост отрезков мезокотилия и листа /11/. Гибберелловая кислота, напротив, стимулирует действие на рост отрезков мезокотилия, причем в большей степени участки, прилежащие к узлу. При изучении взаимодействия фитогормонов было установлено, что наибольшее стимулирующее действие на рост отрезков колеоптиля оказывают при совместном действии ИУК и кинетин, а на рост отрезков мезокотилия - ИУК / $10^{-6}$ М/. Рост основания листа во всех возрастных группах значительно усиливается при обработке гиббереллином, причем это усиление полностью снимается ИУК. Кинетин сам по себе слабо влияет на рост основания листа, но снижает ингибирующее действие ИУК на рост листа в присутствии гиббереллина.

Сопоставляя результаты изучения действия фитогормонов на рост изолированных органов, можно отметить, что в ходе прорастания изменяется характер действия фитогормонов. Так, в апикальных отрезках колеоптилей 2-суточных проростков максимальное стимулирующее действие оказывает кинетин, а к 4-м суткам эквивалентные концентрации кинетина и ИУК оказывают одинаковое действие, а в дальнейшем большая стимуляция наблюдается при действии ИУК. В прилежащих к узлу участках колеоптиля молодых проростков, напротив, более сильная реакция на ИУК, а у более взрослых - на кинетин. В отрезках мезокотилей, содержащих узел, наиболее сильное стимулирующее действие оказывают ИУК и ГК, в апикальных отрезках - ИУК. Можно полагать, что подобное действие экзогенных гормонов является отражением гормонального баланса в развивающихся проростках, т.е. наиболее сильное действие на рост органа оказывает гормон, содержание которого в данном органе минимально и который должен поступить из других частей проростка.

Таким образом, при набухании и прорастании зерновки фитогормоны регулируют процессы как мобилизации запасных веществ в эндосперме, так и ростовые процессы в зародыше. Они активируют ионную помпу в щитках и секрецию щитками кислых гидро-

индуцируя переваривание примыкающих к щитку участков эндосперма. Затем выделяемый щитком и развивающимся проростком гиббереллин активирует синтез и секрецию кислых гидролаз /см. 13/ и  $H^+$  - помпу в алейроновых клетках, в результате чего осуществляется мобилизация запасных веществ периферической части эндосперма. Фитогормоны способствуют также всасыванию переваренных веществ щитком, который выполняет функцию гаустории, питающей развивающийся проросток. В самих проростках функционирует своя гормональная система. Для нормального развития каждой части проростка требуется специфическое соотношение фитогормонов, причем это соотношение и оптимум концентрации фитогормонов могут меняться с возрастом проростка.

#### Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Dure L.S. - Plant Physiol., 1960, vol. 35, n. 6, p. 919-925.
2. Полевой В. В., Москалева О. В. - Вестник ЛГУ, 1985, вып. 2, № 10, с. 84-90.
3. Москалева О.В. - Вестник ЛГУ, 1987, вып.2, № 10, с. 118-121.
4. Chisnell J.R., Bandurski R.S. - Plant Physiol., 1988, vol. 86, n. 1, p. 79-84.
5. Полевой В.В., Щипарев С.М., Ильчуков В.В. - Докл. АН СССР, 1981, т. 256, № 3, с. 763-765.
6. Staden van J. - Physiol. Plant., 1983, vol. 58, p. 340-346.
7. Щипарев С.М., Чупрова Г.В., Полевой В.В. - Вестник ЛГУ, 1976, № 21, с. 130-133.
8. Щипарев С.М., Чупрова Г.В. - В кн.: "Фотосинтез, дыхание и органические кислоты", Воронеж, изд-во ВГУ, 1980, с. 149-154.
9. Mukhtar N.O., Laidman D.L. - J. Exp. Bot., 1982, vol. 33, n. 135, p. 643-655.
10. Micola Y., Virtanen M. - Plant Physiol., 1980, vol. 56, n. 6 /Suppl./, p. 142.
11. Москалева О.В., Полевой В.В. - Физиол. и биохим. культ. раст., 1989, т. 21, № 3, с.258-263.
12. Weiler E. W., Jourdan P. S., Conrad W. - Planta, 1981, vol. 153, n. 6, p. 561-571.
13. Джонс Р.Л., Стоддард Дж. - В кн.: "Физио-

логия и биохимия покоя и прорастания семян".  
Колос, 1982, с. 93-132.

## СИНТЕЗ БЕЛКА НА РАННИХ СТАДИЯХ ПРОРАСТАНИЯ СЕМЯН

Н.А.ГУМИЛЕВСКАЯ

/Институт биохимии им. А.Н.Баха АН СССР,  
Москва/

Для семян многих видов культурных растений простой контакт с водой при определенных условиях температуры и аэрации оказывается достаточным для активации временно подавленных метаболической ростовой активностью зародыша, для инициации новой /или новых/ генетических программ развития, превращающих зародыш в проросток, а затем в самостоятельный автотрофный организм. Способностью к росту обладают только зародышевые оси семян, но, чтобы рост продолжился после начальных стадий прорастания, необходима мобилизация запасных отложений, которые составляют основную часть семени и у многих видов локализованы в специализированных тканях самого зародыша. Таким образом, переход от эмбриогенеза к прорастанию для осевых органов зародыша выражается в инициации увеличения размеров и числа клеток, а для запасящих органов зародыша - в коренном изменении направленности метаболических процессов, в формировании нового катаболического типа обмена, обеспечивающего мобилизацию и транлокацию запасных отложений. По современным представлениям переключение программ развития происходит путем репрессии и дерепрессии определенных генов и выражается в качественных и количественных изменениях наборов транслируемых мРНК и синтезируемых белков. Иными словами, изменения в клеточной морфологии и физиологии являются отражением изменений в наборе экспрессируемых генов. Совершенно очевидно, что подходом к пониманию молекулярных механизмов, регулирующих экспрессию генов и делающих возможным переход зародыша от стадии эмбрионального развития к стадии прорастания является